

1. ☒ Ούλωφ Πάλμε & Επάφου & Χρυσίπου 1 Ζωγράφου, ☎ 210 74 88 030
2. ☒ Φανερωμένης 13 Χολαργός, ☎ 210 6536551
3. ☒ Ευεργέτου Γιαβάση 9 Αγία Παρασκευή, ☎ 210 6000031



ΛΥΣΕΙΣ ΔΙΑΓΩΝΙΣΜΑΤΟΣ

ΘΕΜΑ Α

- A1. Γ
- A2. Α
- A3. Δ
- A4. Γ
- A5. Α

ΘΕΜΑ Β

B1.

- α. Από τα αριστερά προς τα δεξιά, τα στάδια είναι Τελόφαση (και κυτταροπλασματική διαίρεση), Μετάφαση, Πρόφαση, Ανάφαση, Μεσόφαση
- β. Φραγμοπλάστης

B2. Ex vivo γονιδιακή θεραπεία.

Τα στάδια είναι:

- 1) Απομόνωση λεμφοκυττάρων του ασθενούς και μεταφορά σε θρεπτικό υλικό στο εργαστήριο.
- 2) Εισαγωγή του φυσιολογικού γονιδίου σύνθεσης της απαμινάσης της αδενοσίνης σε ιό φορέα (που έχει προηγουμένως καταστεί αβλαβής) με τις τεχνικές του ανασυνδυασμένου DNA.
- 3) Ο ανασυνδυασμένος ιός μολύνει τα λεμφοκύτταρα και τους εισάγει το φυσιολογικό γονίδιο.
- 4) Τα γενετικά τροποποιημένα λεμφοκύτταρα εισάγονται εκ νέου στον οργανισμό με ενδοφλέβια ένεση και παράγεται το φυσιολογικό προϊόν.

Η μέθοδος εμφανίζει τα εξής μειονεκτήματα

- 1) Έχει παροδική διάρκεια (πρέπει να επαναλαμβάνεται συνεχώς)
- 2) Εφαρμόζεται μόνο σε κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος και όχι σε κύτταρα άλλων οργάνων

B3. 1) Η α-θαλασσαιμία κληρονομείται ως πολυγονιδιακός χαρακτήρας ενώ η β-θαλασσαιμία ως μονογονιδιακός χαρακτήρας

2) Η α-θαλασσαιμία οφείλεται συνήθως σε έλλειψη ενός, δύο, τριών ή και τεσσάρων γονιδίων α αλυσίδας αιμοσφαιρίνης, ενώ η β-θαλασσαιμία σε γονιδιακές μεταλλάξεις προσθήκης, έλλειψης ή αντικατάστασης βάσης.

B4. 1) Μπορεί το διαφορετικό αμινοξύ να αλλάξει τη στερεοδιάταξη του ενεργού κέντρου και ως εκ τούτου, να ελαττώσει ή να μηδενίσει την ενεργότητα του ενζύμου

2) Μπορεί το διαφορετικό αμινοξύ να έχει παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες με το αρχικό και να επηρεάσει ελάχιστα τη στερεοδιάταξη του ενεργού κέντρου και άρα και την ενεργότητά του (ουδέτερη μετάλλαξη)

B5. Κλώνος είναι ένα σύνολο πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων ή οργανισμών. Αποικία είναι ένα σύνολο μικροοργανισμών, που έχουν προέλθει από τις διαδοχικές διαιρέσεις ενός αρχικού κυττάρου, όταν αυτό αναπτύσσεται σε στερεό θρεπτικό υλικό και είναι ορατή με γυμνό οφθαλμό. Συνεπώς, ο κλώνος είναι ευρύτερη έννοια από την αποικία.

ΘΕΜΑ Γ

Γ1. Το cDNA προέρχεται από τη διαδικασία της αντίστροφης μεταγραφής και είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο με το mRNA. Συνεπώς το mRNA, από την αντίστροφη μεταγραφή του οποίου προκύπτει η αλυσίδα cDNA που δόθηκε, είναι το εξής:

3'CCUAGGGGGAGUACGGGCCACCAUAGAGAACCGUAUCCCUAGG 5'

Στο παραπάνω μόριο mRNA υπογραμμισμένα φαίνονται το κωδικόνιο έναρξης, 5'AUG'3 και το κωδικόνιο λήξης, 5'UGA3'. Ο γενετικός κώδικας είναι κώδικας τριπλέτας, δηλαδή μια τριάδα νουκλεοτιδίων, το κωδικόνιο, κωδικοποιεί ένα αμινοξύ. Είναι συνεχής, δηλαδή το mRNA διαβάζεται συνεχώς ανά 3 νουκλεοτίδια χωρίς να παραλείπεται κάποιο. Είναι μη επικαλυπτόμενος, δηλαδή κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε ένα μόνο κωδικόνιο και έχει κωδικόνιο έναρξης, το 5'AUG3' καθώς και κωδικόνια λήξης, τα 5'UAA3', 5'UGA3' και 5'UAG3'.

Η μεταγραφή ξεκινά από τον υποκινητή και γίνεται με κατεύθυνση 5' προς 3'. Η RNA πολυμεράση τοποθετεί ριβονουκλεοτίδια συμπληρωματικά και αντιπαράλληλα προς τη μη κωδική αλυσίδα του DNA. Η αλυσίδα του DNA που δε μεταγράφεται είναι η κωδική. Ο όρος κωδικόνιο αναφέρεται τόσο στο mRNA όσο και στην κωδική αλυσίδα του DNA. Συνεπώς τα κωδικόνια της κωδικής αλυσίδας του γονιδίου από το οποίο προήλθε το cDNA είναι τα εξής:

5' ATG-CCA-AGA-GAT-ACC-ACC-CGG-GCA-TGA 3'

Γ2. Τελικό δίκλωνο μόριο DNA:

5' GGATCCCCCTCATGCCCGGGTGGTATCTCTTGGCATAGGGATCC 3'
3'CCTAGGGGGAGTACGGGCCACCATAGAGAACCGTATCCCTAGG5'

Ένζυμα που συμμετέχουν στη δημιουργία του δίκλωνου cDNA: Αντίστροφη μεταγραφάση, DNA πολυμεράση.

Γ3. Το δίκλωνο cDNA πρόκειται να ενσωματωθεί σε φορέα προκειμένου να παραχθεί σε βακτήριακά κύτταρα το πεπτίδιο που κωδικοποιεί. Συνεπώς δεν πρέπει να κοπεί από

περιοριστική ενδονουκλεάση. Αυτό σημαίνει πως η περιοριστική ενδονουκλεάση που θα χρησιμοποιηθεί στο πλασμίδιο είναι η *StuI*, η οποία δεν αφήνει μονόκλινα άκρα.

Σημείωση: δεκτή θεωρείται και η επιλογή της BamHI, η οποία αναγνωρίζει μια αλληλουχία στην αρχή και στο τέλος του cDNA, μόνο όμως υπό την προϋπόθεση πως θα αναφερθεί στην αιτιολόγηση ότι στο πλασμίδιο αναδημιουργείται η αλληλουχία του cDNA που κόπηκε από την περιοριστική ενδονουκλεάση και μόνο εφόσον κόβει το πλασμίδιο πριν το κωδικόνιο έναρξης του γονιδίου.

Γ4. Κάθε φορά που η περιοριστική ενδονουκλεάση συναντά την αλληλουχία που αναγνωρίζει, κόβει 2 φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Συνεπώς στο πλασμίδιο κόπηκαν δύο φωσφοδιεστερικοί δεσμοί με τη δράση της περιοριστικής ενδονουκλεάσης.

Όταν ενσωματώθηκε το δίκλωνο cDNA στο πλασμίδιο-φορέα, τότε δημιουργήθηκαν δύο φωσφοδιεστερικοί δεσμοί στο σημείο που ενώνεται η κάθε πλευρά του cDNA με το πλασμίδιο, οπότε συνολικά δημιουργήθηκαν 4 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί. Το ένζυμο που ενώνει το cDNA με το πλασμίδιο με φωσφοδιεστερικό δεσμό είναι η DNA δεσμάση.

Γ5. Το cDNA μπορεί να ενσωματωθεί στο πλασμίδιο με δύο τρόπους. Στο δίκλωνο μόριο cDNA συναντάμε κωδινόνιο έναρξης και προχωρώντας συνεχώς και μη επικαλυπτόμενα καταλήγουμε σε κωδικόνιο λήξης και στις δύο αλυσίδες.

5' GGATCCCCCTC**ATG**CCCGGGTGGTATCTCTTGGC**ATAGGGATCC** 3'
3' CCTAGGGGG**AGT**ACGGGCCACCATAGAGAACC**GTATCCCTAGG**5'

Συνεπώς διακρίνουμε δύο περιπτώσεις:

1^η περίπτωση: κωδική αλυσίδα η πάνω:

5' GGATCCCCCTC**ATG**-CCC-GGG-TGG-TAT-CTC-TTG-GCA-**TAGGGATCC** 3'

Πεπτίδιο: H₂N-met-pro-gly-trp-tyr-leu-leu-ala-COOH

2^η περίπτωση: κωδική αλυσίδα η κάτω:

3' CCTAGGGGG**AGT**-ACG-GGC-CCA-CCA-TAG-AGA-ACC-**GTATCCCTAGG**5'

Πεπτίδιο: H₂N-met-pro-arg-asp-thr-thr-arg-ala-COOH

ΘΕΜΑ Δ

Δ1.

A. Η περίπτωση της επικρατούς κληρονομικότητας, απορρίπτεται, διότι από υγιείς γονείς θα προέκυπταν μόνο υγιείς απόγονοι. Παρατηρούμε όμως ότι ο απόγονος Π2 νοσεί.

Αν η ασθένεια είναι αυτοσωμική υπολειπόμενη, τότε, συμβολίζοντας με A το φυσιολογικό αλληλόμορφο και a το μεταλλαγμένο παθολογικό αλληλόμορφο, θα ισχύει:

Π1 Aa, Ι2 Aa, Π1 AA ή Aa, Π2 aa

Αν η ασθένεια είναι φυλοσύνδετη υπολειπόμενη, τότε συμβολίζοντας με X^A το φυσιολογικό αλληλόμορφο και X^a το παθολογικό μεταλλαγμένο αλληλόμορφο, θα ισχύει:

Π1 X^AX^a, Ι2 X^AY, Π1 X^AX^A ή X^AX^a, Π2 X^aY

Οι δύο παραπάνω περιπτώσεις γίνονται αποδεκτές.

B. Παρατηρούμε από τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης, ότι οι ζώνες των ατόμων Π1 και Ι2 είναι πανομοιότυπες, κάτι που σημαίνει ότι τα αλληλόμορφα των ατόμων αυτών κόβονται με τον ίδιο τρόπο. Συγκεκριμένα η ζώνη των 1000 ζβ αντιστοιχεί στο αλληλόμορφο που δεν κόβεται, ενώ οι ζώνες 600 και 400 ζβ, προκύπτουν από το αλληλόμορφο που κόβεται.

Αν η ασθένεια ήταν φυλοσύνδετη, τα άτομα Π1, Ι2 δε θα είχαν τον ίδιο γονότυπο και δε θα προέκυπταν τα ίδια πρότυπα ζωνών, συνεπώς η ασθένεια είναι αυτοσωμική και ο γονότυπος των ατόμων Π1 και Ι2 είναι ετερόζυγος (Aa, με βάση το συμβολισμό του προηγούμενου ερωτήματος).

Παρατηρώντας τις ζώνες που σχηματίζονται για το άτομο Π2, συμπεραίνουμε ότι το αλληλόμορφο που κόβεται είναι το φυσιολογικό A, διότι το άτομο Π2 έχει γονότυπο aa και τα αλληλόμορφα του δεν κόβονται (προκύπτουν μόνο ζώνες 1000 ζβ).

Άρα το φυσιολογικό αλληλόμορφο A κόβεται σε μία θέση, δίνοντας δύο ζώνες 600 και 400 ζβ.

Δ2.

A. Παρατηρούμε ότι ατροφικά/μακριά φτερά = 2/1 και για τα δύο φύλα (μεταξύ θηλυκών και αρσενικών απογόνων).

Η διασταύρωση γίνεται μεταξύ εντόμων με ατροφικά φτερά, συνεπώς ο χαρακτήρας μακριά φτερά ελέγχεται από υπολειπόμενο αλληλόμορφο και η έκφρασή του καλύπτεται στην P γενιά από το επικρατές για τα ατροφικά φτερά:

A--> ατροφικά φτερά

a--> μακριά φτερά

Πατρική γενιά: Aa x Aa

Πρώτη γενιά απογόνων: AA, Aa, Aa, aa

Τα άτομα με γονότυπο AA πεθαίνουν, δηλαδή ο γονότυπος AA έχει θνησιγόνο δράση.

Σημείωση - δεκτή λύση θεωρείται και η εξής:

AA--> μακριά φτερά

Aa --> ατροφικά φτερά (φορείς του θνησιγόνου υπολειπόμενου α)

aa --> πεθαίνουν (θνησιγόνο υπολειπόμενο αλληλόμορφο)

B. Παρατηρούμε ότι η αναλογία θηλυκών προς αρσενικούς απογόνους είναι 2/1, ενώ φυσιολογικά θα έπρεπε η αναλογία αυτή να είναι 1/1, όπως υπαγορεύεται από την παρακάτω διασταύρωση:

P: XX x XY

F1: ½ XX, ½ XY

Αυτό σημαίνει ότι στη γενετική θέση για το χρώμα ματιών, εντοπίζεται υπολειπόμενο και φυλοσύνδετο θνησιγόνο αλληλόμορφο, που οδηγεί σε πρόωρο θάνατο όσα αρσενικά άτομα το φέρουν σε ένα αντίγραφο.

Συμβολίζοντας με X^K το φυσιολογικό αλληλόμορφο για το κόκκινο χρώμα και με X^k το θνησιγόνο, υπολειπόμενο και φυλοσύνδετο αλληλόμορφο, η διασταύρωση είναι

P: X^KX^k x X^KY

F1: X^KX^K , X^KX^k , X^KY , X^kY

Παρατηρούμε ότι όλοι οι βιώσιμοι απόγονοι έχουν κόκκινο χρώμα ματιών, η αναλογία βιώσιμων θηλυκών απογόνων προς βιώσιμους αρσενικούς είναι 2/1, ενώ τα άτομα με γονότυπο X^kY πεθαίνουν.